

Les Cèl·lules Mare Mesenquimals i les seves Aplicacions Clíniques

Jiménez García, Francisco. Grau de Biologia. Universitat Autònoma de Barcelona



Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) are self-renewing, multipotent progenitor cells with the capacity to differentiate into tissues of both mesenchymal and non-mesenchymal origin. MSCs can differentiate into osteoblastic, chondrogenic, and adipogenic lineages, although recent studies have demonstrated that MSCs are also able to differentiate into other lineages. Here we first review basic features of MSC biology including sources of MSC and their characteristics in culture. Moreover, clinical application of MSC are mainly attributed to their important four biological properties- the ability to home to sites of inflammation following tissue injury when injected intravenously; to differentiate into various cell types; to secrete multiple bioactive molecules capable of stimulating recovery of injured cells and inhibiting inflammation and to perform immunomodulatory functions. We will discuss these four properties and we review the roles of MSCs in clinical trials conducted to treat orthopedic injuries, cancer, liver diseases, cardiovascular diseases, graft versus host disease following bone marrow transplantation and autoimmune diseases. Then we highlight the currently reported uses of MSCs in clinical trials and discuss their efficacy as well as their limitations.

Característiques generals

La *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) ha establert els requisits mínims per a designar les MSCs:

- 1) Capacitat d'adhesió a superfícies plàstiques de cultiu. Característica que no presenten les cèl·lules mare hematopoètiques.
- 2) Expressió dels marcadors CD73, CD90 i CD105 en >95% del cultiu
- 3) Absència dels marcadors hematopoètics CD34, CD45, CD14 o CD11b, CD19 o CD79a i l'antigen leucocitari humà DR (HLA-DR) en >95% del cultiu.
- 4) Capacitat de diferenciació en adipòcits, condrocits i osteoblasts.

Fonts d'obtenció i cultiu

S'ha demostrat la presència de MSCs en moll d'ós, sang del cordó umbilical i teixit adipós [taula 1], entre d'altres localitzacions com ara el teixit nerviós, el teixit muscular o la polpa dental. L'aplicació terapèutica de les MSCs sovint requereix un gran nombre de cèl·lules, això requereix l'expansió *ex vivo* després de la recollida. Els cultius de MSCs tenen una sèrie de limitacions. Per una banda, els alts nivells d'oxigen disminueixen l'activitat de la telomerasa provocant l'escurçament dels telòmers. Per una altra banda, es produeix divisió cel·lular asimètrica. A més, alguns estudis han descrit transformacions malignes *in vitro*.

Objectius i Metodologia

Recerca bibliogràfica sobre les Cèl·lules Mare Mesenquimals amb l'objectiu de conèixer:

- Les característiques generals de les MSC;
- les seves propietats característiques;
- les seves aplicacions i el seu potencial terapèutic;
- i les seves possibles limitacions.

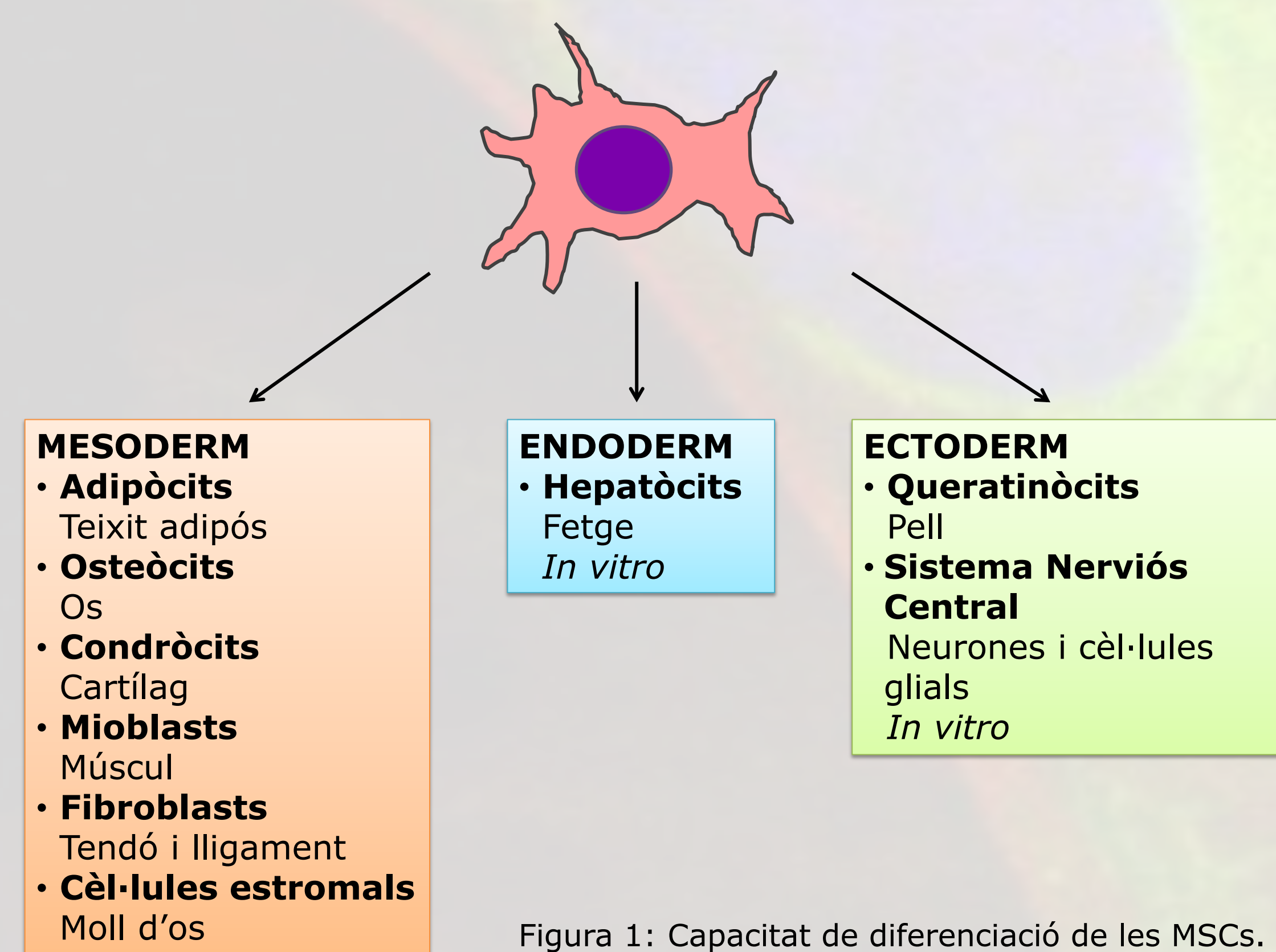
- Recerca basada, principalment, en la cerca d'articles i *reviews* científiques a través de les bases de dades **PubMed** del NCBI.
- Cerca en llibres de text actuals i pàgines web d'àmbit científic i mèdic per als aspectes generals i informació complementària.
- Subscripció al **NCBI** per a rebre informació actualitzada via *e-mail* de les cèl·lules mare mesenquimals i els aspectes relacionats.
- Utilització de la base de dades de registres i resultats d'estudis clínics clinicaltrials.gov per les dades dels assaigs clínics i la realització de les gràfiques relacionades.

Fonts d'obtenció	Avantatges	Limitacions
Moll d'ós	- Capacitat de diferenciació en adipòcits, condrocits i osteoblasts. - Mètode "tradicional".	- Baix número de cèl·lules. - Procediment invasiu. - Disminució capacitat proliferació i diferenciació segons la edat del donant.
Sang del cordó umbilical	- Menys invasiu que el del moll d'ós.	- La baixa taxa d'eficiència en l'aïllament. - Gran volum de sang necessari. - Ràpid processament de la mostra. - Incapacitat de diferenciació fins a llinatge adipogènic.
Teixit adipós	- Mètode fàcil: Lipoaspiració. - Més cèl·lules respecte al moll d'ós. - Mateixa potencialitat que MSCs del moll d'ós.	- Estudi: presència del marcador CD34 (marcador hematopoètic) en cèl·lules adhesives de cultius primerencs derivats del teixit adipós.

Taula 1: Principals fonts d'obtenció de cèl·lules mare mesenquimals i els seus avantatges i les seves limitacions.

Capacitat de diferenciació

Les MSCs són **cèl·lules mare adultes multipotents** amb capacitat per a diferenciar-se en cèl·lules del **llinatge mesenquimal** i capacitat de **transdiferenciar-se** *in vitro* en cèl·lules de les altres capes germinals.



Funció secretora

Les MSCs produeixen una gran quantitat de **citoquines, quimioquines** i **factores de creixement** que regulen diverses funcions a través de la interferència de diferents tipus cel·lulars.

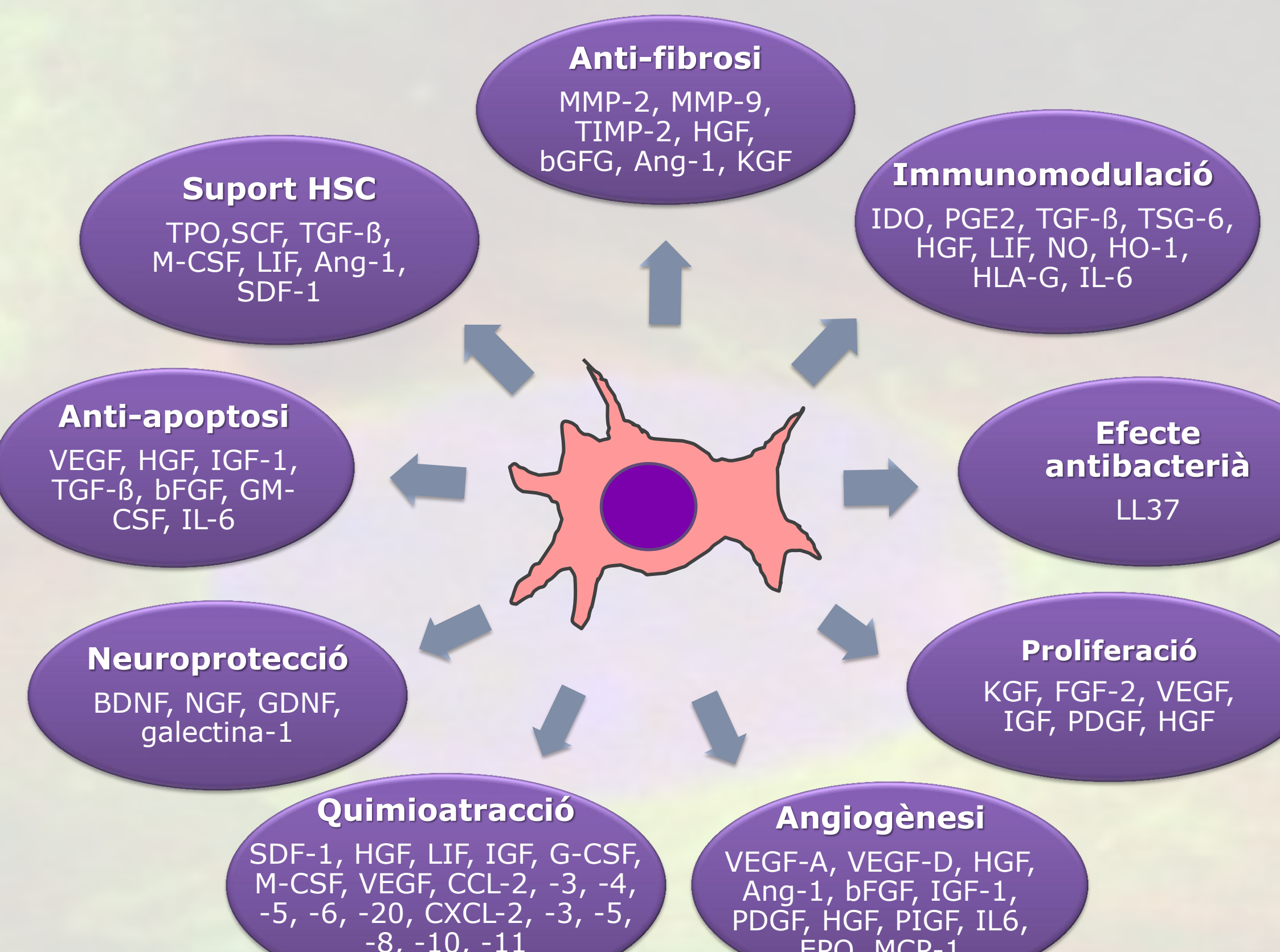


Figura 2: Factors secretats per les MSCs i la seva funció. Adaptació de Maumus M, et al. *Biochimie*. 2013

L'ús del secretoma per a l'elaboració de **estratègies lliures de cèl·lules** i, en particular, els **exosomes** (nanovesícules) i les **microvesícules** alliberades es presenten com una alternativa segura i potencialment avantatjosa a la teràpia cel·lular. Les vesícules secretades condicionen i reprogramen el microambient circumdant, estan relacionades amb el desenvolupament, la supervivència i la diferenciació cel·lular. Presenten una gran quantitat de molècules, entre les que destaquen proteïnes, mRNAs, microRNAs i molècules lipídiques.

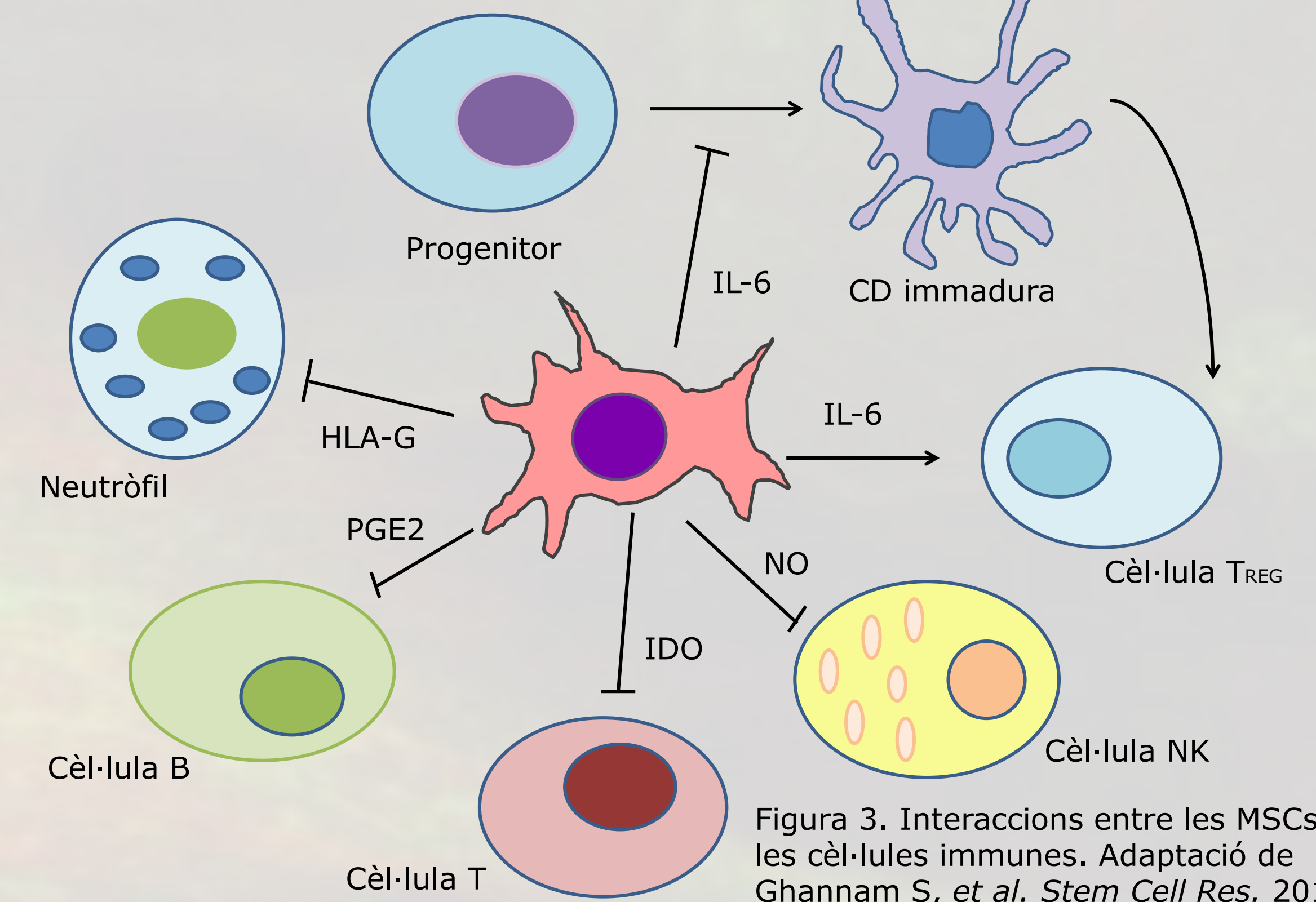
Usos terapèutics

- Dany renal agut (AKI):**
- IGF-1 i VEGF → inhibició apoptosi cèl·lules epitelials.
- Malalties cardiovasculars:**
- Akt-MSC → suport cèl·lules estroma.
 - ADM → Atenuació fibrosi.

- Càncer**
- Capacitat migratòria i *Homing*.
 - Efectes anti-proliferatius o pro-apoptòtics.
 - MicroRNA: comunicació cèl·lula-cèl·lula.

Immunomodulació

Algunes de les molècules solubles secretades per les MSCs presenten activitat immunoreguladora. Presenten tant la capacitat de potenciar el sistema immunològic com de suprimir-lo. La funció immunosupressora requereix l'activació preliminar a través de la secreció de la citoquina IFN γ .



- Limfòcit T:** Supressió proliferació i alteració secreció de citoquines.
Cèl·lula T_{REG}: Augment expansió i funció.
Limfòcit B: Inhibició proliferació i diferenciació terminal.
Natural Killer: Supressió proliferació, secreció i citotoxicitat
Cèl·lula Dendrítica: Inhibició diferenciació, migració, maduració i presentació.
Neutròfil: Supressió proliferació.

Usos terapèutics

- Trasplantament**
- Reconstitució estroma medul·la després de la quimioradioteràpia.
 - Millora empelt HSCs.

- Malalties autoimmunes:**
- Artritis reumatoide**
 - Disminució expansió Th1 i Th17.
 - Augment secreció IL-10.
 - Generació CD4⁺, CD25⁺, Foxp3⁺ i T_{REG}.
 - Esclerosi múltiple**
 - CC12 → Reducció IL-17 i TNF α .

- Graft versus host disease (GVHD)**
- Pacients resistents als esteroides → Disminució mortalitat.
 - Pacients amb leucèmia → Major incidència càncer.

- Lupus eritematos sistemàtic**
- Reconstrucció nínxols osteoblàstics.
 - Restauració nivells Foxp3⁺.
 - Diabetis autoimmune**
 - Disminució macròfags.
 - Regulació T_{REG}/T autoreactives.
 - Augment illots pancreàtics i cèl·lules β productores d'insulina.

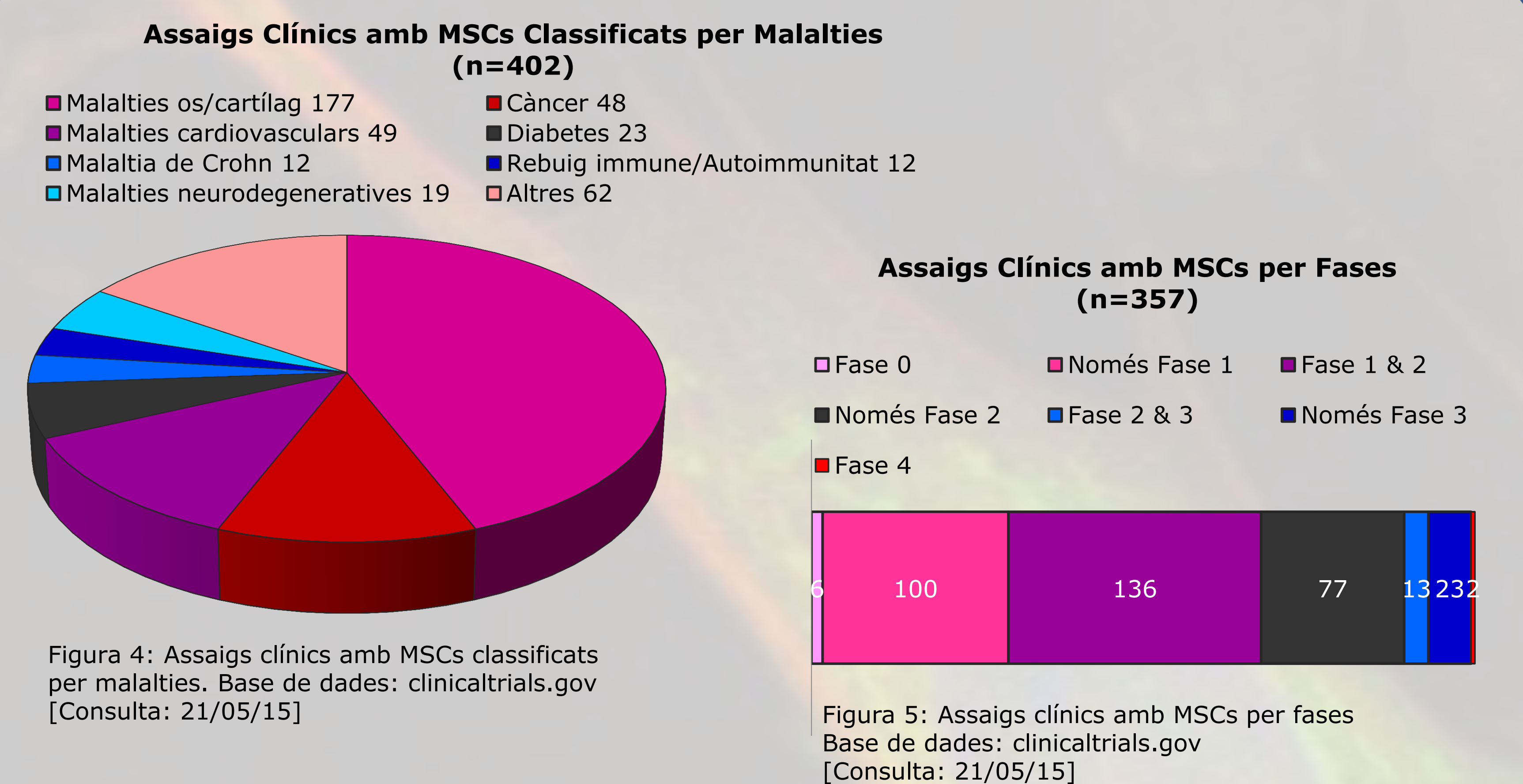
Capacitat migratòria i Homing

Una de les propietats característiques de les MSCs és la capacitat migratòria cap a teixits diferenciats. Poden migrar selectivament cap a llocs d'inflamació i microambients tumorals. En el *homing* de MSCs hi participen citoquines i quimioquines inflamatores i altres molècules quimiotàctiques. Les MSCs presenten els receptors de quimioquines CCR2, CCR3, CCR4 i CCL5 i una sèrie de receptors de factors de creixement com PDGF i IGF-1.

Usos terapèutics

- Usos ortopèdics**
- Diferenciació en osteòcits → mineralització òssia.
 - En osteogènesi imperfecta i hipofosfatasia.
 - Diferenciació condrocits → regeneració cartílag.
- Càncer**
- Modificació genètica → sobreexpressió gens antitumorals.

Assaigs clínics



Conclusions

- Les MSCs són cèl·lules mare adultes multipotents amb capacitat d'adhesió que expressen els marcadors CD73, CD90 i CD105, no expressen els marcadors hematopoètics CD34, CD45, CD14 o CD11b, CD19 o CD79a i HLA-DR i posseeixen capacitat de diferenciació en adipòcits, condrocits i osteoblasts.
- La seva naturalesa immune privilegiada fa d'aquestes cèl·lules unes grans eines terapèutiques.
- La seva capacitat de modulació de la resposta immune i la seva capacitat de *homing específic cap al creixement maligne fan les MSCs atractives per al tractament de malalties autoimmunes i càncers sòlids*.
- L'ús del secretoma de MSCs i, en particular, de les vesícules alliberades representa una alternativa interessant per la reparació de teixits a través d'una teràpia lliure de cèl·lules.
- Estan en marxa una ampla varietat d'assaigs clínics sobre les MSCs degut al seu alt potencial dins la medicina regenerativa. Tot i que, la majoria d'aquest estudis, encara es troben en fase I/II.
- Els dubtes entorn el seu mecanisme d'acció, la manca de marcadors fenotípics únics i l'extracció ineficient, a més de les preocupacions sobre la seguretat i les estrictes normatives, són factors que estan obstaculitzant el seu ús pràctic en entorns clínics.
- És necessari una major inversió econòmica en la investigació de MSCs amb el fi de resoldre aquests dubtes i dissenyar estratègies terapèutiques eficaces per al tractament de malalties com ara malalties d'ós i cartílag, malalties cardiovasculars, malalties neurodegeneratives, l'esclerosi múltiple, la GVHD, la diabetis i el càncer, entre d'altres.

Bibliografia destacada

- Baglio, S. R., et al. *Front. Physiol.* 2012. 3-359.
- Corwin WL, et al. *Cryobiology*. 2014 (2):215-26.

- Ghannam S, et al. *Stem Cell Res.* 2010.
- Kim N, et al. *Korean J Intern Med.* 2013 (4): 387-402.
- Maumus et al. *Biochimie*. 2013 (12):2229-34.
- Rastegar F, et al. *World J. Stem Cells* 2010. 2, 67-80.